Der Einfluß von Vitaminen auf das Wachstum von Bacterium bifidum

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Paul Runge

Saarbrücken

1972

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

Aus der Kinderklinik der Universität des Saarlandes
und der Landeskinderklinik Neunkirchen-Kohlhof
Direktor: Prof. Dr. med. J. B. Mayer

Der Einfluss von Vitaminen auf das Wachstum von Bacterium bifidum

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung der
DOKTORWÜRDE
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
vorgelegt von

Paul Runge

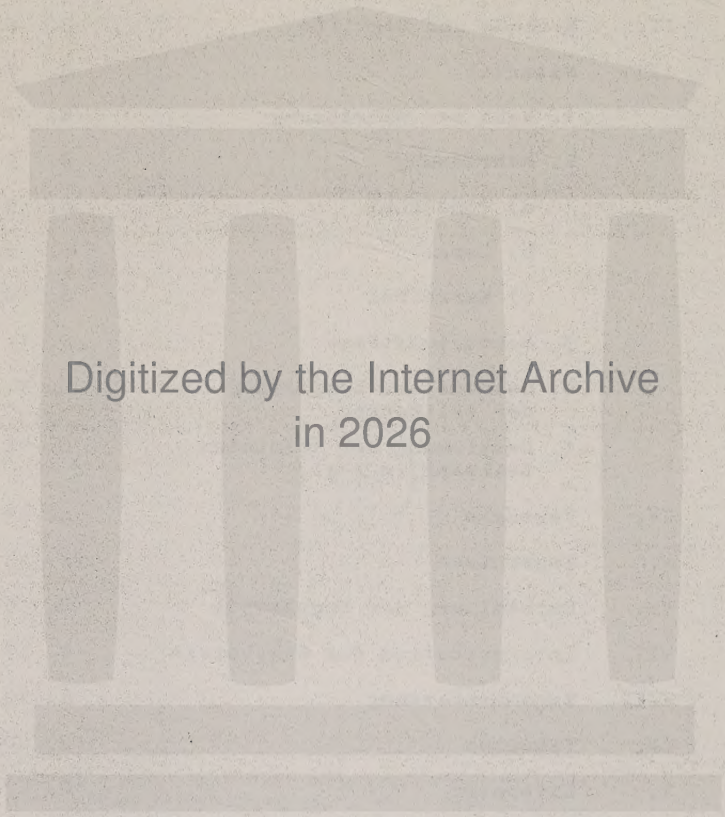
Dekan: Professor Dr. med. H. Kulenkampff
Referent: Professor Dr. med. J. B. MAYER

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Prüfung wurde am 11.2.1972 abgelegt

Inhaltsverzeichnis

I.	Einleitung	S. 3
II.	Methode und Begriffe	S. 6
III.	Material	S. 7
	1. Wahl der Nährlösung	S. 7
	2. Nährlösung	S. 9
	a) TOMARELLI	S. 9
	b) Leber	S. 9
	c) Kartoffel	S. 10
	3. Bakterienstämme	S. 11
	4. Methode zur Bestimmung der Zellmengen	S. 11
	5. Bestimmung der absoluten Zellzahl in 1 µl	S. 12
IV.	Versuche	S. 13
V.	Ergebnisse	S. 15
VI.	Darstellung der Ergebnisse	S. 16
VII.	Interpretation der Ergebnisse	S. 17
VIII.	Zusammenfassung	S. 19
IX.	Tabellen	S. 20-26
X.	Literatur	S. 27-28


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542725_0076

I. Einleitung

Im Jahre 1900 beschrieb TISSIER ein von ihm im Säuglingsdarm gefundenes anaerobes Stäbchen, das er "Bazillus bifidus communis" nannte. Er erkannte als erster, dass die normale Darmflora des Säuglings sich von der des Erwachsenen unterscheidet. Doch "trotz der grossangelegten und in die Breite gehenden Bifidumforschung ist die entscheidende Frage, welche Bedeutung das Bakterium bifidum für den wachsenden Organismus hat, nicht genügend geklärt." (J. B. MAYER) Übereinstimmung scheint in der Feststellung zu bestehen, dass ein Zusammenhang zwischen dem gesundheitlichen Zustand des Säuglings und der Bifidum-Flora besteht.

Damit taucht die Frage auf, von welchen Faktoren ein gutes Wachstum der Bifidum-Flora abhängig ist. ADAM hat 1925 die Vermutung geäussert, dass für die Bifidum-Flora nur die entsprechende Nahrungszusammensetzung massgeblich sei. Er schliesst jedoch auf eine gesetzmässige Abhängigkeit der Flora von den Verdauungsfunktionen.
PASCHLAU (1941) ist der Ansicht, die Bifidum-Flora sei nur ein Indikator für den normalen Ablauf der Verdauungsvorgänge.

J. B. MAYER und andere Bifidumforscher sind der Ansicht, dass ein harmonisches Zusammenspiel mehrerer Faktoren notwendig sei, um im Darm eine gesunde Bifidum-Flora zu erzeugen.
Es ist bis jetzt kaum geklärt, welche Rolle dabei den Vitaminen zuzusprechen ist. Diese Arbeit möchte einen Beitrag dazu liefern.

Eine Reihe von Forschern hat sich bereits mit dieser Frage beschäftigt. Im Jahre 1935 und 36 versuchte E. REICHELT zu klären, ob Bakterium bifidum ("B.b.") Vitamin B_1 produzieren kann. Seine Versuche haben ergeben, dass an Beriberi erkrankte Reistauben mit Reinkulturen geheilt werden können. Er verwendete Reinkulturen von B.b., die auf "Vitamin B_1-freiem Nährboden gezüchtet waren." Er nahm an, dass der Nährboden (Kalbsleberbouillon) "keine erheblichen B_1-Mengen enthalten habe." Doch gibt er zu, dass seine Kontrollen nur oberflächlich waren.
In einer Arbeit aus dem Jahre 1965 stellt HOMMA fest: "Wenn man Bifidum in grosser Menge im Darm ansiedelte, vermehrte sich die Gesamtmenge des Blutvitamins B_1, sowie die Ausscheidungsmenge des Vit. B_1 im Urin deutlich."
Im weiteren sind KOCH und SCHWARZ (Regensburg) gerade dabei, einen von J. B. MAYER übersandten Bifidumstamm und seine Nährböden auf ihren Gehalt an B-Vitaminen zu untersuchen. Es zeigte sich bisher, dass von den erfassbaren 8 B-Vitaminen 7, und zwar Aneurin, Nicotin-

säure, Pantothensäure, d-Biotin, Adermin, Folsäure und Cholinchlorid in ausreichender Menge vorhanden sind, während Riboflavin nur in Spuren gefunden wurde. Uber den Vit. B_2-Gehalt konnte BOVENTER genauere Angaben machen. Er stellte fest, dass 1 g Bifidumsediment etwa 25 gamma Vit. B_2 enthalte. Doch lässt sich diese Angabe kaum für unsere Fragestellung verwerten, denn es lässt sich nicht eruieren, ob B.b. die festgestellte Menge Vit. B_2 selbst produziert, oder aus dem Nährboden aufgenommen hat.
ORLA-JENSEN untersuchte 1939 den Gehalt an Vit. K und stellte fest, dass 1 g Trockensubstanz 200 Einheiten Vit. K enthält.
Mit mikrobiologischen Testverfahren ging 1961 S. LIEBSCHER ausführlicher unserer Frage nach. Sie stellte fest, dass folgende Vitamine von B.b. synthetisiert werden: Thiamin, Riboflavin, Nicotinsäure, Pantothensäure, Pyridoxin, Folsäure und Cobalamin.

Es erhebt sich nun die weitere Frage, ob die gebildeten Vitamine auch an das umgebende Milieu abgegeben und resorbiert werden und so dem Säugling zugute kommen können. Damit haben sich besonders GERBER, U. SCHWARTZER, J. B. MAYER und HAENEL beschäftigt. GERBER und SCHWARTZER (1937) nehmen an, dass der Vitamin B-Reichtum des B.b. dem Säugling nicht zugute

kommt, da eine Vitaminresorption im Dickdarm unwahrscheinlich sei. Zu dieser Annahme kommen sie durch Versuche mit Ratten. Doch erscheint es fraglich, ob diese Ergebnisse sich ohne weiteres auf den Säugling übertragen lassen.
Denn 1942 konnte OPPEL nachweisen, dass beim Menschen bei Verabreichung von Vit. B_1 durch hohe Einläufe ein ansehnlicher Anteil des Vitamins resorbiert wird, d. h. im Urin erscheint.
Doch diese Frage bedarf noch der Klärung.

II. Methode und Begriffe

Es soll der Einfluss der Vitamine auf das Wachstum des Bakterium bifidum untersucht werden.
Dabei sind wir so vorgegangen, dass wir jeweils in einer Versuchsserie B.b. in einer geeigneten Nährlösung gezüchtet haben, in der alle vermutlich notwendigen Vitamine vorhanden sind. In weiteren, dazu zeitlich parallel laufenden Serien wurde dann B.b. in der gleichen Nährlösung gezüchtet, bei der aber jeweils 1 Vitamin weggelassen wurde. Nach einer bestimmten Zeit haben wir die Vermehrung der Zellen so bestimmt, dass das Volumen der "gepackten Zellsubstanz" gemessen wurde (Bakteriokrit).

"Gepackt" bedeutet in diesem Zusammenhang, dass die Zellen durch Zentrifugieren auf kleinstem Raum zusammengedrängt wurden.
Wir machten die Versuche jeweils unter anaeroben und aeroben Bedingungen.
Wir verwenden hier den Begriff "aerob" so, daß wir nichts unternommen haben, um den Sauerstoff, der durch Diffussion in die Nährlösung übergehen kann, abzuhalten. Im Gegensatz dazu haben wir bei den anaeroben Versuchsreihen die Luft weitgehend durch Leuchtgas ersetzt.

III. Material

1. Wahl der Nährlösung

Es gibt eine ganze Reihe von Nährlösungen, auf denen sich B.b. in vitro zur Vermehrung bringen lässt. Sie lassen sich einteilen in:

a) Chemisch nicht genau definierbare, die aus pflanzlichen oder tierischen Bestandteilen bestehen, wie z. B. Kartoffel, Leber, Milch oder Hefe.
b) Chemisch ganz oder nahezu genau definierbare Nährlösungen, wie z. B. die nach TOMARELLI oder PETUELY.

Um quantitativ vergleichbare Ergebnisse zu bekommen, war es notwendig, eine chemisch möglichst genau definierbare Nährlösung zu verwenden. Am besten bewährt hat sich an unserer Klinik die Nährlösung von TOMARELLI et al., die als einzige, chemisch nicht genau definierte Substanz, ein Pepton enthält, das sich aber bei unseren Versuchen nicht störend auswirken kann, da wir immer die gleiche Lösung verwendet haben.

Die TOMARELLI-Lösung geht auf eine Nährlösung zurück, die TEPLY und ELVEHJEM verwendeten. Im Unterschied zu der letztgenannten enthält die TOMARELLI-Lösung eine grössere Menge von Natriumacetat zur Erhöhung der Pufferkapazität. Jedoch enthält sie kein Nicotinsäureamid, das wir nach einem Vorschlag von NAGAI zusetzten.

Zum Vergleich des Wachstums zwischen natürlichen und synthetischen Nährlösungen wurden Parallelversuche mit Leber- und Kartoffellösungen gemacht.

2. Nährlösungen:

a) TOMARELLI

In 1 Liter TOMARELLI-Lösung sind enthalten: K_2HPO_4 2,5 g, $NaCH_3COO$ 25 g, Ascorbinsäure 1 g, Pepton, aus Fleisch 5 g, beta-Alanin 0,2 g, DL-Tryptophan 0,2 g, L-Asparagin 0,1 g, L-Cystein·HCL 0,263 g, Adenin 10 mg, Guanin 10 mg, Uracil 10 mg, Xanthin 10 mg, Thiamin·HCl 0,2 mg, Riboflavin 0,2 mg, Pyridoxin.HCl 1,2 mg, Calcium-pantothenat 0,4 mg, Nicotinsäureamid 0,6 mg, p-Aminobenzoesäure 0,010 mg, Folsäure 0,010 mg, beta-Biotin 0,004 mg, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 200 mg, $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12\ H_2O$ 17 mg, NaCl 10 mg, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 8 mg, D-Glucose 20 g.

b) Leber-Lösungen (nach J. B. MAYER)

25 g Trockenleberpulver (Difco) werden mit 250 ml Leitungswasser 2 Minuten im Mixer verrührt; der Inhalt wird in einen grossen Erlenmeyer-Kolben gegossen. Anschliessend wird der Mixer mit 750 ml Leitungswasser gespült, und das Spülwasser wird ebenfalls in den Erlenmeyer-Kolben geschüttet. Nun lässt man den Inhalt des Kolbens 2 Stunden langsam kochen, und danach autoclaviert man 30 Minuten lang. Nachdem man diese Aufschwemmung 7 Tage lang im Kühlschrank stehen gelassen hat, wird filtriert und das Filtrat mit Leitungswasser auf 1 l aufgefüllt. Nun gibt man

10 g Pepsinum cum peptono und 5 g NaCl hinzu, verrührt und lässt das ganze über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Am nächsten Tag wird bei 105° C 1 Stunde sterilisiert, wonach 20 g Lactose und 20 ml Hefewasser hinzugegeben werden. Nach nochmaliger Sterilisation während 20 Minuten bei 100° C ist die Lösung gebrauchsfertig.

c) Kartoffel-Nährlösung (nach J. B. MAYER)

Geschälte Kartoffeln werden mechanisch zerkleinert, der Saft wird abgepresst, 1/2 Stunde bei 100° C sterilisiert, nach Abkühlen filtriert und schliesslich 10 Minuten bei 100° sterilisiert. 1 l Magermilch wird mit konzentrierter HCl auf pH 1,8 gebracht, nach Zugabe von 0,4 g Pepsin cum peptono wird die Milch 24 Stunden im Brutschrank bei 37° C stehengelassen, dann mit ca. 30%iger NaOH auf pH 5,0 gebracht und aufgekocht. Nach Erkalten wird filtriert und anschliessend 10 Minuten bei 120° C sterilisiert; wenn die Lösung trübe ist, wird noch einmal kurz bei 100° C sterilisiert. Die Aufbewahrung des Kartoffelwassers und der peptonisierten Milch erfolgt im Kühlschrank.

3. Bakterienstämme

Wir verwendeten in einer Versuchsreihe den Stamm "B.b.8", der vor über 4 Jahren an unserer Klinik aus Brustkinderstühlen isoliert wurde und seitdem unter Sauerstoffmangel auf Leberplatten nach J. B. MAYER (Fortnerverfahren) gezüchtet wurde. In einer zweiten Versuchsreihe prüften wir den Stamm "B.b.TISSIER", den wir vor über 3 Jahren aus dem Institut Pasteur, Paris erhielten.

4. Methode zur Bestimmung der Zellmengen

Wir verfuhren dabei ähnlich wie zur Bestimmung des Hämatokrits. Diese Methode verwendete zuerst TORZEWKY mit gutem Erfolg zur Bestimmung der Zellmengen. Nach seinem Vorschlag nenne ich das Volumen der gepackten Zellsubstanz "Bakteriokrit" (Bk).
Ich möchte das dabei verwendete Röhrchen ausführlich beschreiben, da es sich gut bewährt hat: die starkwandige, graduierte Kapillare, (Wanddicke 1,5 mm) in die sich durch Zentrifugieren die Masse der Bakterien absetzt, erweitert sich am Hals in den wesentlich weiteren Kelch, der zur Aufnahme der Bakterien-Suspension dient. (Inhalt 2,5 ml). Sehr wesentlich ist der spitzwinklige Übergang der Kapillare in den Kelch, weil sich sonst bei Bestehen eines Plateaus beim

Zentrifugieren Zellmassen dort ablagern können und damit der Messung entgehen.
Bei Vorversuchen stellten wir fest, dass bereits nach 2 Minuten Zentrifugierens praktisch alle Bakterien sedimentiert waren. Da jedoch die Zellen je nach Dauer des Zentrifugierens verschieden kompressibel sind, zentrifugierten wir jeweils genau 5 Minuten, um diese Fehlerquelle auszuscheiden.
Die Zentrifuge Typ "Universal Junior III" stammt von der Firma Christ, Osterode. Wir arbeiteten mit 5 200 U/min; das entspricht einer relativen Zentrifugalbeschleunigung von 33 500 g.

5. Bestimmung der absoluten Zellzahl in 1 µl

Dazu stellten wir vom bekannten Volumen gepackter Zellsubstanz Verdünnungsreihen $1:10^{-2}$ bis $1:10^{-10}$ in physiologischer Kochsalzlösung her. Wir überimpften jeweils 1 ml dieser verdünnten Bifidumlösung auf mit TOMARELLI-Nährlösung versehene Agar-Agar-Platten, die durch Schütteln möglichst gleichmässig verteilt wurde.
Nach 3 - 4 Tagen konnten die Einzelkolonien gezählt werden. Ich wählte zur Zählung jeweils die Platten aus, in denen ein Wachstum von etwa 30 - 300 Einzelkolonien vorhanden waren.

IV. Versuche

Die Bakterien wurden jeweils mit einer Platinöse von Leberplatten gesammelt, in einer sterilen 0,9%igen Kochsalzlösung gewaschen, abzentrifugiert und wiederum in eine sterile physiologische Kochsalzlösung gegeben, um eine möglichst homogene Bakteriensuspension zu erreichen.
Von dieser Suspension wurden je 0,2 ml in die mit 5 ml der jeweiligen Nährlösung gefüllten Reagenzgläser gegeben.

Folgende Serien wurden angesetzt:

a) TOMARELLY-Nährlösung (komplett)
b) " " minus Thiamin
c) " " minus Riboflavin
d) " " minus Pyridoxin
e) " " minus Calciumpantothenat
f) " " minus Nicotinsäureamid
g) " " minus Thiamin, Riboflavin, Pyridoxin, Calciumpantothenat, Nicotinsäureamid
h) Leber-Nährlösung
i) Kartoffel-Nährlösung.

Für jede Serie verwendeten wir 6 Reagenzgläser, von denen jeweils 3 in einen Exsikkator gestellt wurden,

der dreimal abwechselnd entleert und die restliche Luft mit Leuchtgas verdünnt wurde. Die andere Hälfte der Kulturlösung blieb in Kontakt mit der Luft.
Die Inkubationstemperatur war 37° C. Die Gesamtdauer einer Versuchsserie war 4 Wochen.
Nach jeweils 7 Tagen wurde die Passage unterbrochen. Aus jedem Röhrchen wurden, nachdem die Kultursuspension möglichst gleichmässig aufgeschüttelt worden war, 2 ml Bakteriensuspension zur Bakteriokritbestimmung entnommen. Ausserdem wurden jeweils GRAM-Präparate hergestellt, um die Reinheit der Kulturen zu kontrollieren.
Begonnen wurde mit jeweils 5 ml Nährlösung. Nach den einzelnen Passagen wurden wechselnde Mengen der betreffenden Nährlösung zugegeben (vgl. Tabelle 5), da ich mich nach dem Ausmass der Vermehrung richten musste. Wenn wir die vorhandenen Bakterienlösungen mit zuviel Nährlösung "verdünnt" hätten, so wäre am Ende der Passage trotz des Wachstums die Bakterienkonzentration zu gering geworden, um sie mit den angegebenen Bakteriokritröhrchen noch genau bestimmen zu können.
Nach der 4. Passage wurde die gesamte Menge der Kulturlösung zur Bakteriokritbestimmung verwendet. Ausserdem wurde von einigen Lösungen die absolute Zellzahl pro µl nach der unter III,5 angegebenen Methode ermittelt.

V. Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in folgenden Tabellen zusammengefasst:

Tabelle I: Sie enthält die absoluten Werte (Bakteriokrit) der in den Reagenzgläsern vorhandenen Bakterien-Volumina in µl. Die Dezimalstellen sind durch die Umrechnung der Volumina bedingt.

Tabelle II: Aus ihr lässt sich die Konzentrationsvermehrung durch Wachstum während der Passagen ersehen. Die Werte wurden so gewonnen, dass das Gesamtvolumen an gepackter Zellsubstanz durch das Volumen der Suspension dividiert wurde.

Tabelle III: Sie gibt den Vermehrungsfaktor während einer Passage an und soll veranschaulichen, wie sich das Wachstum während des ganzen Versuchs ändert. Die Werte wurden ermittelt, indem die Konzentration am Ende einer Passage durch den Wert am Anfang der Passage dividiert wurde. Zur besseren Übersicht wurden die Dezimalstellen auf- oder abgerundet.

VI. Darstellung der Ergebnisse

1. In den ersten 8 Tagen bestehen die grössten Wachstumsunterschiede zwischen den einzelnen Serien. Dabei ist das Wachstum ohne B_1, B_2 und Nicotinsäureamid noch sehr gut. Am wenigsten scheint es vom Vorhandensein von B_1 abhängig. Auffallend ist nur eine Abweichung von Stamm "B.b. 8" in anaerober Züchtung. Hier war das initiale Wachstum ohne Pyridoxin sehr gering, steigerte sich aber in der 2. Passage auf das 4-fache.

2. Sehr gering ist das Wachstum immer, wenn Pantothensäure fehlt. Nach der 2. Passage fällt folgendes auf: In den Kulturen, in denen sich anfänglich ein überschiessendes Wachstum zeigte, reduzierte es sich meist auf den Faktor 2.

3. In den Kulturen der Serien ohne Pantothensäure und ebenfalls in denen ohne alle Vitamine ist das Wachstum in der ersten Passage zunächst sehr gering, vor allem bei dem Stamm B.b. 8. Während der 2. Passage steigert sich die Vermehrung jedoch zum Teil auf das Dreifache.

4. Ein Vergleich des Wachstums auf den Kartoffel-Leber-Lösungen (ohne Zusatz von Vitaminen) mit der kompletten Nährlösung von TOMARELLI zeigt folgendes:

In den ersten 8 Tagen bei ersteren ein noch stürmischeres Wachstum, das dann aber sofort auf den Faktor 2 zurückgeht.

5. Aerobes Wachstum ist etwa ebenso gut wie anaerobes.

6. Nach der unter III,5 dargestellten Methode wurde ermittelt, dass 1 µl "gepackter" Zellsubstanz etwa 17×10^6 Bakterien enthalten.

VII. Interpretation der Ergebnisse

S. LIEBSCHER hat 1961 in ihrer interessanten Arbeit folgendes festgestellt:

a) In Lösungen, die keine Pantothensäure enthalten, ist B.b. imstande, es selbst zu bilden.
b) In Lösungen, die viel Pantothensäure enthalten, verbraucht B.b. erhebliche Mengen davon.

Unsere Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass das Wachstum von B.b. unter anderem vom Gehalt der Lösung an Pantothensäure abhängig ist.
Mit dieser Hypothese lassen sich die überraschenden Ergebnisse zwanglos erklären.

Zu 1.: Die anfänglich zugegebene grosse Konzentration von Pantothensäure ermöglicht erhebliches Wachstum. Dabei werden aber sehr grosse Mengen dieses Vitamins verbraucht.

Zu 2.: Dadurch muss in der 2. Passage das Wachstum sehr stark zurückgehen. In den folgenden Passagen kann das Wachstum nur soweit erfolgen, als Pantothensäure nachgebildet wurde.

Zu 3.: Wenn genügend Pantothensäure gebildet wurde, kann auch das Wachstum gesteigert werden: Während der 1. Passage ist das Wachstum in den Serien ohne Pantothensäure und ohne alle Vitamine im Gegensatz zu den anderen Serien ziemlich gering. Daraus lässt sich also folgern, dass die Pantothensäure für ein gutes Wachstum notwendig ist. Dass während der 2. Passage der selben Serien das Wachstum bis auf das 3-fache gesteigert werden konnte, lässt sich in voller Übereinstimmung mit S. LIEBSCHER's Ergebnissen so erklären, dass während der 1. Passage Pantothensäure gebildet wurde und deshalb erst in der 2. Passage bei Anwesenheit dieses Vitamins das Wachstum erheblich gesteigert werden konnte. In weiteren Versuchen liesse sich mit dieser Methode feststellen, wie weit das Wachstum von B.b. gesteigert werden kann, wenn immer genügend Pantothensäure vorhanden ist.

Zu 5.: Das exzessive Wachstum auf Kartoffel- und Lebernährböden lässt vermuten, dass darin weitere, das Wachstum fördernde Substanzen enthalten sind.

VIII. Zusammenfassung

Es wurde an zwei Stämmen des B.b. der Einfluss von Vitaminen auf das Wachstum untersucht. Dabei wurde gefunden, dass das Wachstum auch ohne die Vitamine B_1, B_2, Riboflavin und Nicotinsäureamid relativ gut ist. Beim Fehlen von Pantothensäure dagegen ist das Wachstum immer sehr gering. Das lässt vermuten, dass Pantothensäure ein essentieller Wuchsstoff für B.b. ist, der jedoch bei völligem Fehlen am Beginn der Züchtung nach einer gewissen Zeit der Anpassung von B.b. gebildet werden kann.
Ausserdem wurde ermittelt, dass ein µl gepackter B.b.-Zellen etwa 17×10^6 Bakterien enthalten.

Tabelle I

Volumen gepackter B.b.-Zellen pro Reagenzglas in µl

Stamm B.b.-8

Lösung	1.Passage		2.Passage		3.Passage		4.Passage	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach
aerob:								
Komplett	2,1	12,4	7,6	11,7	8,5	17,5	12,7	17,5
- Thiamin	2,1	7,4	3,6	10,4	7,6	11,7	8,5	16,0
- Riboflavin	2,1	5,8	3,8	5,8	4,2	8,8	6,4	7,3
- Pyridoxin	2,1	4,6	3,0	7,3	5,3	10,2	7,4	8,8
- Pantothenat	2,1	2,9	1,9	5,1	3,7	5,8	3,8	5,8
- Nicotinsäureamid	2,1	8,1	5,3	8,8	6,4	11,0	8,0	11,7
- alle Vit.	2,1	2,3	1,5	4,4	3,2	4,4	3,2	4,8
anaerob:								
Komplett	2,1	9,6	6,0	13,1	9,5	13,1	9,5	17,5
- Thiamin	2,1	8,4	5,2	11,7	8,5	10,2	7,4	16,0
- Riboflavin	2,1	5,3	3,3	5,8	4,2	8,0	5,8	7,3
- Pyridoxin	2,1	2,6	1,6	7,3	5,3	9,5	6,9	8,0
- Pantothenat	2,1	2,1	1,3	3,7	2,7	5,8	4,2	5,1
- Nicotinsäureamid	2,1	6,4	4,8	8,0	5,8	11,7	8,5	11,7
- alle Vit.	2,1	2,1	1,3	2,9	2,1	4,4	3,2	4,4

Tabelle I (Fortsetzung)

B.b.-TISSIER

Lösung	1.Passage vor	1.Passage nach	2.Passage vor	2.Passage nach	3.Passage vor	3.Passage nach	4.Passage vor	4.Passage nach
aerob:								
Komplett	2,1	18,5	11,5	28,8	16,8	21,6	14,4	21,6
- Thiamin	2,1	16,0	9,9	18,7	10,9	18,0	12,0	18,0
- Riboflavin	2,1	14,8	9,5	14,4	8,4	14,4	9,6	10,8
- Pyridoxin	2,1	14,8	9,5	9,8	5,6	7,2	4,8	9,0
- Pantothenat	2,1	5,7	3,5	8,6	5,0	6,3	4,2	9,0
- Nicotinsäureamid	2,1	11,5	7,1	8,6	5,0	7,2	4,8	10,8
- alle Vit.	2,1	3,4	2,1	4,3	2,5	3,6	2,4	5,4
anaerob:								
Komplett	2,1	14,5	9,0	28,8	16,8	23,4	15,6	18,0
- Thiamin	2,1	13,0	8,8	26,0	15,2	21,6	9,6	17,1
- Riboflavin	2,1	10,1	6,2	7,2	4,2	9,0	6,0	9,0
- Pyridoxin	2,1	11,6	7,2	11,5	6,7	14,4	9,6	10,1
- Pantothenat	2,1	6,8	4,2	7,2	4,2	5,4	3,6	8,1
- Nicotinsäureamid	2,1	5,8	3,6	11,5	6,7	12,6	8,4	14,4
- alle Vit.	2,1	5,8	3,6	4,3	2,5	2,7	1,8	3,6

Tabelle II

Konzentration gepackter B.b.-Zellen µl/ml Nährlösung

Stamm B.b.-8

Lösung	1.Passage vor	1.Passage nach	2.Passage vor	2.Passage nach	3.Passage vor	3.Passage nach	4.Passage vor	4.Passage nach
aerob:								
Komplett	0,4	2,3	1,1	1,6	1,2	2,4	1,7	2,4
- Thiamin	0,4	1,4	0,5	1,4	1,0	1,5	1,2	2,2
- Riboflavin	0,4	1,1	0,5	0,8	0,6	1,2	0,9	1,0
- Pyridoxin	0,4	0,9	0,4	1,0	0,7	1,4	1,0	1,3
- Pantothenat	0,4	0,6	0,3	0,7	0,5	0,8	0,5	0,8
- Nicotinsäureamid	0,4	1,6	1,7	1,2	0,9	1,5	1,1	1,6
- alle Vit.	0,4	0,5	0,2	0,6	0,4	0,6	0,4	0,7
anaerob:								
Komplett	0,4	1,8	0,8	1,8	1,3	1,8	1,3	2,4
- Thiamin	0,4	1,6	0,7	1,6	1,2	1,4	1,0	2,2
- Riboflavin	0,4	1,0	0,5	0,8	0,6	1,1	0,8	1,0
- Pyridoxin	0,4	0,5	0,2	1,0	0,7	1,3	0,5	1,1
- Pantothenat	0,4	0,4	0,2	0,5	0,4	0,8	0,6	0,7
- Nicotinsäureamid	0,4	1,2	0,6	1,1	0,8	1,6	1,2	1,5
- alle Vit.	0,4	0,4	0,2	0,4	0,3	0,5	0,4	0,6

Tabelle II (Fortsetzung)

B.b.-TISSIER

Lösung	1.Passage vor	1.Passage nach	2.Passage vor	2.Passage nach	3.Passage vor	3.Passage nach	4.Passage vor	4.Passage nach
aerob:								
Komplett	0,4	3,6	1,6	3,9	1,9	2,3	1,6	2,4
- Thiamin	0,4	3,1	1,4	2,6	1,2	2,0	1,3	2,0
- Riboflavin	0,4	2,9	1,3	2,0	0,9	1,6	1,1	1,2
- Pyridoxin	0,4	2,9	1,3	1,6	0,6	0,8	0,5	1,0
- Pantothenat	0,4	1,1	0,5	1,2	0,6	0,7	0,5	1,0
- Nicotinsäureamid	0,4	2,2	1,0	1,2	0,6	0,8	0,5	1,2
- alle Vit.	0,4	0,7	0,3	0,6	0,3	0,4	0,3	0,6
anaerob:								
Komplett	0,4	2,8	1,3	3,9	1,9	2,6	1,7	2,0
- Thiamin	0,4	2,5	1,1	3,6	1,7	2,4	1,1	1,9
- Riboflavin	0,4	2,0	0,9	1,0	0,5	1,0	0,6	1,0
- Pyridoxin	0,4	2,2	1,0	1,6	0,8	1,6	1,1	1,3
- Pantothenat	0,4	1,3	0,6	1,0	0,5	0,6	0,4	0,9
- Nicotinsäureamid	0,4	1,1	0,5	1,6	0,8	1,4	0,9	1,6
- alle Vit.	0,4	1,1	0,5	0,5	0,3	0,3	0,2	0,4

Tabelle III : Vermehrungsfaktor

Stamm	Lösung	1.Passage	2.Passage	3.Passage	4.Passage
B.b.-8	Komplett	6	2	2	1
aerob	-Thiamin	4	3	2	1
	-Riboflavin	3	2	2	1
	-Pyridoxin	2	2	2	2
	-Pantothens.	1	3	2	2
	-Nicotins.A.	4	2	2	1
	- alle Vit.	1	3	1	1
B.b.-8	Komplett	5	2	1	2
anaerob	-Thiamin	4	2	1	2
	-Riboflavin	3	2	2	1
	-Pyridoxin	1	4	2	1
	-Pantothens.	1	3	2	1
	-Nicotins.A.	3	2	2	1
	- alle Vit.	1	2	2	1
TISSIER	Komplett	9	2	1	2
aerob	-Thiamin	8	2	2	2
	-Riboflavin	7	2	2	1
	-Pyridoxin	7	1	1	2
	-Pantothens.	3	2	1	2
	-Nicotins.A.	6	1	1	2
	- alle Vit.	2	2	1	2
TISSIER	Komplett	7	3	1	1
anaerob	-Thiamin	6	3	1	2
	-Riboflavin	5	1	2	2
	-Pyridoxin	6	2	2	1
	-Pantothens.	3	2	1	2
	-Nicotins.A.	3	3	2	2
	- alle Vit.	3	1	1	2

Tabelle IV

Tabellen für Kartoffel- und Leber-Nährlösungen (aerob)

Lösungen	1.Passage		2.Passage		3.Passage		4.Passage	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach
Tabelle I:								
TISSIER								
Kartoffel	7	70	50	72	56	135	105	144
Leber	7	133	95	288	224	342	264	324
B.b.-8								
Kartoffel	2,1	58	36	66	48	95	69	95
Leber	2,1	111	69	250	182	250	182	22o
Tabelle II:								
TISSIER								
Kartoffel	1	10	5,5	10,8	6,2	15	12	16
Leber	1	19	10,5	31	25	38	30	36
B.b.-8								
Kartoffel	0,4	11	4,5	9	6,6	13	9,5	13
Leber	0,4	21	9,5	34	25	34	25	30
Tabelle III:								
TISSIER								
Kartoffel	10		2		2		1	
Leber	19		3		2		1	
B.b.-8								
Kartoffel	27		2		2		1	
Leber	52		3		1		1	

Tabelle V : Mengen bei den einzelnen Passagen

Passage	Stamm	Bakterien-Suspension entnommen (in ml)	Nährlösung zugegeben
1.	TISSIER	-	5
2.		2	4
3.		3	5
4.		3	3
1.	8-er	-	5
2.		2	4
3.		2	2
4.		2	2

X. Literatur

ADAM, A.: Die Entstehung der Bifidum-vegetation. Jb. Kinderheilk. 110, 186 (1925).

BOVENTER, K.: Bacterium bifidum und seine Bedeutung. Ergebn. Hyg. Bakt. 26, 193 (1949).

DENKO, C. W. und Mitarbeiter: Excretion of B-complex vitamins by normal adults on restrictet intake. Arch:Biochemistry 11, 109 (1946).

DITTMANN, J., RUNGE, P. und MAYER, J. B.: Der Vitaminbedarf in Tomarelli-Lösung. Z.Kinderheilk. 101, 295-304 (1967).

GERBER, B. und K. SCHWARTZER: Zum Chemismus des Bacillus bifidus. Arch. Kinderheilk. 112, 129 (1937).

HAENEL, H.: Welche Bedeutung haben die Keime der Bifidusgruppe für den Menschen? Kinderärztl. Prax. 33, 24 (1965).

HOMMA, N.: Bacterium bifidum, dessen serologische Einteilung und Vitamin B_1-Produktion. Mschr.Kinderheilk. 113, 334 (1965).

KOCH, A.: Grundlagen und Probleme der Symbioseforschung. In: Med. Grundlagen-Forsch. Bd. IV, S. 64. Stuttgart: Thieme 1962.

LIEBSCHER, S.: Sind die im Darm des mit Muttermilch ernährten Säuglings vorherrschenden Bifidusbakterien als nützliche Vitaminlieferanten für den Säuglingsorganismus anzusehen? Z.Kinderheilk. 85, 265 (1961).

MAYER, J. B., G. TEWES und J. DITTMANN: Bildung von Milchsäure in Tomarelli-Lösung. Z.Kinderheilk. 90, 368 (1964).

NAGAI, T.: Clinical and experimental studies on Ethyl-N-Acetyl-D-Glucosamine as bifidus-factor. Paediat.jap. 3, 83 (1960).

ORLA-JENSEN, S., und D. ANNA: Über die K-Vitaminbildung einiger Darmbakterien. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 104, 202 (1941/42).

PASCHLAU, G.: Erfahrungen mit der Bessau-Nahrung bei der Aufzucht von Säuglingen. Arch.Kinderheilk. 122, 177 (1941).

PETUELY, F., und V. LYNAU: Ein einfacher vollsynthetischer Optimalnährboden für den Lb. bifidus. Biochem. Z. 326, 62 (1954).

REICHELT, E.: Hat die Bifidusflora vitaminartige Wirkungen? Mschr.Kinderheilk. 63, 138 (1935).

REICHELT, E.: Vergleich der Vitaminwirkung von B. bifidum und B. coli mit Hilfe der Reistaubenmethode. Mschr. Kinderheilk. 77, 327 (1939).

TEPLEY, L. J. and C. A. ELVEHJEM: Titrimetric determination of "Lactobacillus casei factor" and "folic acid". J. biol. Chem. 157, 303 (1945).

TISSIER: Etude sur la Flore intestinale et pathologique du nourisson. Thèse de Paris 1900.

TOMARELLI, R. M., R. F. NORRIS, P. GYÖRGY, J. B. HASSINEN, and F. W. BERNHART: Nutrition of variants of Lactobacillus bifidus. J. biol. Chem. 181, 879 (1949).

TORZEWSKI, D.: Nachweis von Katalase und Nitrat-Reduktase bei verschiedenen Stämmen von Bacterium bifidum. Inauguraldissertation Homburg (Saar) 1966.

Danksagung.

Herrn Professor Dr.J.B.Mayer bin ich für die Überlassung des Themas und für die Möglichkeit an seiner Klinik arbeiten zu können zu grossem Dank verpflichtet.
Besonderen Dank schulde ich Herrn Dr.rer.nat.J.Dittmann, der mir mit seinem Rat zur Seite stand. Durch abwägende Kritik entstand eine Beziehung, die Menschen und Objekte besser verstehen hilft.

Lebenslauf

Am 26. April 1936 schenkte mir meine Mutter, Elisabeth Runge in Heidelberg das Leben. Mein Vater, Dr. Sigismund Runge war Bibliotheksrat, zunächst an der Universität Heidelberg, später an der Technischen Hochschule in Karlsruhe. Dort verlebte ich den größten Teil meiner Jugend.

Nachdem mein Vater nicht aus dem Krieg heimgekehrt war, besuchte ich in Pirmasens das humanistische Gymnasium. 4 Jahre lang war ich auf der Schule Birklehof im Schwarzwald, deren Leiter Dr. Georg Picht damals meine Entwicklung beeinflußt hat. 1956 machte ich in Karlsruhe das Abitur.

Bestimmend für die Wahl meines Studiums war das Erlebnis des Krieges und des totalen Zusammenbruchs. So begann ich 1956 in Heidelberg mit dem Studium der Theologie, das ich in Hamburg bei Prof. D. Dr. Thieleke fortsetzte. In Ergänzung zur historisch-kritischen Methode befaßte ich mich auch mit psychologischen und medizinisch-anthropologischen Fragen. Auf der Suche nach einem umfassenden Menschenbild schien mir nun die Psychologie besser geeignet, so daß ich 1958 in Hamburg, 1959 in Heidelberg psychologische und medizinische Vorlesungen besuchte.

Unter dem Einfluß meines Lehrers, Prof. Dr. Kütemeyer, eines Schülers von Viktor von Weizsäcker, entschloß ich mich 1960, den Schwerpunkt auf die Medizin zu legen. Im Frühjahr 1961 machte ich in Heidelberg mein Vorphysikum, 1964 in Fribourg (Schweiz) mein Physikum. Nach zwei Semestern klinischen Studiums in Göttingen kam ich im Wintersemester 1965 nach Homburg (Saar). Im Juli 1968 habe ich mein medizinisches Staatsexamen absolviert.